АПОЛИПОПРОТЕИН Е (apolipoprotein-E (APO E)) 93014

Иммунотурбидиметрический метод для определения аполипопротеина Е в сыворотке.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 93014 1x45 мл буфер, 1x15 мл антисыворотка

ПРИНЦИП МЕТОДА

Тест на аполипопротеин Е – это количественный иммунотурбидиметрический тест для определения аполипопротеина Е (Апо Е) в сыворотке и плазме человека. Антитела к Апо Е при добавлении к пробам, содержащим Апо Е, образуют нерастворимые комплексы. Эти комплексы вызывают изменение абсорбции пропорционально концентрации Апо Е в пробе пациента. Концентрация в пробе Апо Е определяется при сравнении с калибратором с известными значениями.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ[1]

Плазменный аполипопротеин Е человека – это протеин из 299 аминокислот, составляющих единую полипептидную цепочку. Он в основном продуцируется печенью и секретируется как гликопротеин. У людей Апо Е имеет генетический полиморфизм; Апо Е представлен в 3-х основных изоформах: Апо Е2, Е3 и Е4.

Апо Е – это важный компонент плазменных липопротеинов и влияет на метаболизм липопротеинов посредством его активности как рецепторного лиганда. Он обнаруживается в основном в хиломикронах, ЛПОНП, ЛПВП, и метаболитах хиломикронов и ЛПВП. Выведение Апо-Е-несущих липопротеинов опосредовано присоединением к нескольким различным клеточным рецепторам, которые распознают кластер положительно заряженных аминокислот в специфическом регионе Апо Е. Этот аполипопротеин играет центральную роль в метаболизме дериватов хиломикронов и ЛПОНП, регулирует и содействует захвату липопротеинов в печени через взаимодействие дериватов хиломикронов со специфическими рецепторами к ним и связывание дериватов ЛПОНП с рецепторами ЛПНП. Кроме того, Апо Е имеет некоторые другие функции, такие как, иммунорегуляция, регенерация нервов и активация некоторых липолитических ферментов (печеночной липазы, липопротеинлипазы и лецитин-холестерол-ацилтрансферазы).

РЕАГЕНТЫ

R1 дилюент	ТРИС-буфер 100 ммоль/л, ПЭГ 4000, pH 8,5. Азид натрия 0,95 г/л.
R2 антитела	Козья сыворотка, Антитела к аполипопротеину Е человека, pH 7.2. Азид натрия 0,95 г/л.
Дополнительно: не входит в набор	Калибратор аполипопротеинов (APO CAL), кат.№ 93005.

КАЛИБРОВКА

Тест и значение калибратора были стандартизованы по внутреннему референтному материалу. Для калибровки рекомендуется использовать Калибратор APO CAL, кат.№ 93005.

ПОДГОТОВКА

Реагенты: готовы к использованию.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора стабильны вплоть до указанной на этикетке даты (Expiration Date) при хранении в плотно закрытом флаконе при 2-8°C с предотвращением контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов: присутствие частиц или мутности.

Не замораживайте, замороженные антитела или дилюент могут изменять функциональную активность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Термостат с 37°C.

Спектрофотометр или термостатируемый анализатор (37°C) с фильтром 340нм.

ПРОБЫ

Свежие сыворотка или плазма. В качестве антикоагулянтов должны быть использованы гепарин или ЭДТА. Стабильность 2 недели при 2-8°C или 3 месяца при –20°C. Пробы с фибрином должны быть центрифугированы перед тестированием. Не используйте гемолизированные или липемические пробы.

ПРОЦЕДУРА

1. Доведите реагенты и анализатор (держатель кюветы) до 37°C.
2. Условия теста:

Длина волны:	340 нм
Температура:	37°C.
Оптический путь:	1см
Бланк:	по рабочему реагенту
Метод:	кинетика по фиксир.времени по стандарту, задержка – 3с, реакция – 300с.

3. Установите прибор на ноль по дистиллированной воде.

4. Отдозируйте в кюветы:

	Обычный метод		Микрометод	
	Проба	Стандарт	Проба	Стандарт
Дилюент (R1)	750 мкл	750 мкл	375 мкл	375 мкл
Проба или калибратор	25 мкл	25 мкл	12,5 мкл	12,5 мкл

5. Перемешать и измерить абсорбцию (A_1) при 340 нм против бланка по дистиллированной воде.
6. Сразу отдозируйте в кюветы:

Антитела (R2)	250 мкл	250 мкл	125 мкл	125 мкл

7. Перемешать и измерить абсорбцию (A_2) при 340 нм против бланка по реагенту точно через 5 минут после добавления реагента R2.

У Spinreact есть адаптации к различным автоматическим анализаторам, которые доступны по запросу.

РАСЧЕТ

Рассчитайте изменение абсорбции ΔA (A_2–A_1) для каждой пробы и стандарта.

$$\text{Концентрация Апо E (мг/дл)} = \frac{\Delta A \text{ пробы}}{\Delta A \text{ калибратора}} \times C \text{ калибратора.}$$

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля характеристик ручных и автоматических процедур рекомендуется использовать контроль аполипопротеинов Spinreact (кат.№: 93006). Каждая лаборатория должна представить свою собственную схему контроля качества и действия по исправлению, если контроли вне приемлемых диапазонов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[4]

2,7 – 4,5 мг/дл. Каждая лаборатория должна представить свой референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. ***Линейность***: до 12 мг/дл (Примечание 1), при описанных выше условиях. Пробы с большими концентрациями должны быть разведены 1/5 физраствором (NaCl 9г/л) и тестированы повторно, результат умножить на 5. Предел линейности зависит от соотношения проба/реагент. Он будет повышаться при снижения объема сыворотки, при этом также будет пропорционально снижаться чувствительность.
2. ***Определяемый уровень***: Значения ниже 0.5 мг/дл дают невоспроизводимые результаты.
3. ***Эффект прозоны***: нет эффекта прозоны до 13 мг/дл.
4. ***Чувствительность***: Δ 44.39 mA / мг/дл (4 мг/дл).
5. ***Воспроизводимость***:

	Внутри серии тестов (n=10)			Между сериями тестов (n=5)	
Среднее (мг/дл)	2.8	4.2	6.9	3.0	3.7
SD	0.05	0.05	0.06	0.02	0.04
CV %	1.70	1.23	0.83	0.80	1.20

6. ***Правильность***: результаты, полученные с помощью этого теста (y) при сравнении с другими, полученными с использованием коммерческих реагентов (x) с похожими характеристиками, не давали систематических различий. Результаты обследования 50 пациентов в диапазоне Апо E 2–7 мг/дл были следующими: Коэффициент корреляции: (r) 0,974. Уравнение регрессии: y=1,040x + 0,50.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Не наблюдается интерференции с гемоглобином (до 1,0 г/л), билирубином (до 40 мг/дл) и липидами (до 20 г/л). Другие вещества могут оказывать влияние[6,7].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Линейность зависит от концентрации калибратора.
2. Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одиночного теста; он должен быть основан на совокупности клинических и других лабораторных данных.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Phipladelphia, 483, 1983.
2. Mahley RW et al. J Lipids Res 1984; 25: 1277-1294.
3. Rifai N Arch Pathol Lab Med 1986: 110: 694-701.
4. Freedman DS et al. N Eng J Med 1986; 315: 721-726.
5. Sakurabayashi I et al. Clinica Chimica Acta 2001; 312: 87-95.
6. Young DS.Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
7. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3tn ed. AACC Pres, 1997.